

STUDIER ÖVER KOLSYREHUSHÅLLNINGEN I MOSSRIK TALLSKOG

STUDIEN ÜBER DEN KOHLENSÄUREHAUSHALT IN MOOSREICHEM KIEFERNWALD

AV

LARS-GUNNAR ROMELL

EN NITRITBAKTERIE UR SVENSK SKOGS- MARK

UN FERMENT NITREUX FORESTIER

AV

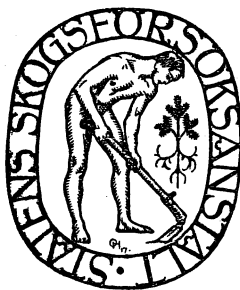
LARS-GUNNAR ROMELL

MARKLUFTSANALYSER OCH MARK- LUFTNING

SOIL AIR AND SOIL AERATION

AV

LARS-GUNNAR ROMELL



MEDDELANDEN FRÅN STATENS SKOGSFÖRSÖKSANSTALT
HÄFTE 24 · Nr 1—3

MEDDELANDEN

FRÅN

STATENS
SKOGSFÖRSÖKSANSTALT

HÄFTE 24. 1927—28

MITTEILUNGEN AUS DER
FORSTLICHEN VERSUCHS-
ANSTALT SCHWEDENS

24. HEFT

REPORTS OF THE SWEDISH
INSTITUTE OF EXPERIMENTAL
FORESTRY

N:o 24

BULLETIN DE L'INSTITUT D'EXPÉRIMENTATION
FORESTIÈRE DE LA SUÈDE

N:o 24



REDAKTÖR:
PROFESSOR DR HENRIK HESSELMAN

INNEHÅLL:

	Sid.
ROMELL, LARS-GUNNAR: Studier över kolsyrehushållningen i moss-rik tallskog	I
Studien über den Kohlensäurehaushalt in moosreichem Kiefernwald	35
— En nitritbakterie ur svensk skogsmark	57
Un ferment nitreux forestier	63
— Markluftsanalyser och markluftning	67
Soil Air and Soil Aeration	76
TIRÉN, LARS: Einige Untersuchungen über die Schaftform	81
Några undersökningar över stamformen	150
— Till frågan om tallstammens avsmalning och volymberäkning	153
To the Question of Tapering and Volume Calculation of Pine Trunks	160
PETRINI, SVEN: Sektionskuberingens noggrannhet	164
Die Genauigkeit der sektionsweisen Kubierung	181
— En närmeformel för kubering av träd	187
Eine Näherungsformel für Stammkubierung	212
SPESSIVTSEFF, PAUL: Studier över de svenska barkborrarnas biologi särskilt med hänsyn till generationsväxlingen. Del I.	221
Studien über die Biologie der Borkenkäfer Schwedens mit besonderer Berücksichtigung der Generationsfrage. Erster Teil	244
MALMSTRÖM, CARL: Våra torvmarker ur skogsdikningssynpunkt ...	251
Our Peat Areas from the Point of Forest-draining	352
Redogörelse för verksamheten vid Statens skogsförsöksanstalt under år 1927. (Bericht über die Tätigkeit der Forstlichen Versuchsanstalt Schwedens im Jahre 1927; Report on the Work of the Swedish Institute of Experimental Forestry).	
Allmän redogörelse av HENRIK HESSELMAN	373
I. Skogsavdelningen (Forstliche Abteilung; Forestry division) av HENRIK PETTERSON	373
II. Naturvetenskapliga avdelningen (Naturwissenschaftliche Abteilung; Botanical-Geological division) av HENRIK HESSELMAN	379
III. Skogsentomologiska avdelningen (Forstentomologische Abteilung; Entomological division) av IVAR TRÄGÅRDH	380
IV. Avdelningen för förnygringsförsök i Norrland (Abteilung für die Verjüngungsversuche in Norrland; Division for Afforestation Problems in Norrland) EDVARD WIBECK	381
Sammanfattning av arbetsprogrammet för åren 1927—1931	386
Zusammenfassung des Arbeitsprogrammes für die Jahre 1927—1931	



EN NITRITBAKTERIE UR SVENSK SKOGSMARK.

(Härtill 10 fig. sammanförda å 3 planscher.)

Förliden vinter vistades jag som Rockefeller-stipendiat¹ vid Institut de microbiologie agricole i Brie-Comte-Robert för att studera WINOGRADSKYS jordbakteriologiska metoder, särskilt hans metod för direkt mikroskopisk bakteriologisk analys av jord. Därunder begagnade jag tillfället att syssla med ett och annat speciellt jordbakteriologiskt problem. Bl. a. upptog jag arbetet att söka identifiera de till sina verkningar under de sista två decennierna så flitigt — ej minst i Sverige — studerade, men till sin natur okända nitrifikationsorganismerna i skogsmarken. Valet av denna uppgift föll sig naturligt, trots det de långsamma nitrifikanterna äro erkänt otacksamma att arbeta med och arbetet alltså kunde befaras ej hinna ge några resultat på den tid, som stod mig till buds. Det var ju nämligen ett enastående tillfälle att få åtminstone påbörja dessa studier på det institut, som förestås av professor WINOGRADSKY, nitrifikanternas upptäckare och den ende, som mera ingående sysslat med deras morfologi. Det lyckades mig ock redan nere i Brie att identifiera nitritbildaren — eller en nitritbildare, för att uttrycka mig försiktigt — i de två undersökta proven av nitrifierande skogshumus. Däremot hann jag ej med att med säkerhet identifiera den — eller de? — organismen, som vidare oxidera nitritet till nitrat.

De humusprov, med vilka jag arbetade, härstammade dels från ett hygge i barrblandskog i Björkviks socken, Södermanland, dels från ett hygge i råhumusbokskog å Tönnersjöhedens försökspark, Breareds socken, Halland. Det förstnämnda materialet är detsamma som i stor utsträckning använts som »infektionsjord» vid HESSELMANS (1926, sid. 203) undersökningar. Det senare materialets nitrifierande förmåga var ej känd genom laborieförsök, men man kunde sluta sig därtill av hallonförekomsten på hygget. Proven insamlades och tillsändes mig genom Skogsforsöksanstaltens försorg, Björkviksmaterialet av docent C. MALMSTRÖM, Tönnersjöhedsmaterialet av skogsmästare G. MELLSTRÖM. Jag begagnar tillfället att även här uttala mitt tack för den värdefulla hjälpen.

¹ Med bidrag även från fonden för skogsvetenskaplig forskning, till vilken jag härmed vill därför framföra mitt tack.

Vätskekulturer. Kulturer av nitrifikanter äro som nämnt alltid svåra att få fart på, men med skogsjorden gick det långsammare än vanligt. Medan man i vätskeråkultur efter ympning med WINOGRADSKYS »terre témoin» (WINOGRADSKY 1925, sid. 31) kunde ha maximal reaktion med TROMSDORFFS reagens redan efter en à två veckor, dröjde det även i passande kulturvätska 6 veckor eller mer, innan en motsvarande¹ nitrifikation inställt sig i de med Björkviksjorden ympade kolvarna. I den klassiska miljön med magnesia lyckades det mig överhuvud ej att få någon nämnvärd nitrifikation i gång vid ympning med skogsjord. Där- emot gick det, om än som sagt långsamt, sedan magnesian utbyttis mot kalciumkarbonat. Detta stämmer med GAARDER och HAGEMS erfarenheter. I de följande generationerna kunde det gå fortare än i moderkulturer. Kulturer arbetade likväl städse långsamt i jämförelse med dem av de vanliga, från »terre témoin» i Brie härstammande organismerna.² Med humusen från Tönnersjöheden lyckades jag icke få fram någon påtaglig nitrifikation i vätskekultur.

Lika litet lyckades mig detta med humus från bestånd i Björkvik, ehuru denna måste innehålla nitrifikanter (jfr HESSELMAN 1926, s. 348—351).

Spontankulturer. Av övriga kulturmetoder försöktes bl. a. den av WINOGRADSKY gärna använda metoden med s. k. spontankulturer (jfr WINOGRADSKY 1926, sid. 9), d. v. s. utan användning av något artificiellt substrat. Man tillsätter endast vissa ämnen (i detta fall ammoniumsalt) till jorden, blandar det hela väl och lagrar i petriskål i termostat. Av resultatet må framhållas, att hyggeshumusen från Björkvik nitrifierade starkt både med och utan bastillsats, men visade sig mycket tacksam för tillsats av kalciumkarbonat, medan däremot under de 2¹/₂ månader, som försöket pågick, ingen nitrifikation inställde sig i kulturen med humus från beståndet i Björkvik trots kalkning. I försöket med Tönnersjö- hedshumusen inträdde mot slutet av försökstiden en stark nitrifikation. Även i detta fall hade CaCO₃ tillsatts.

Halvspontankulturer. De olika jordarnas förhållande i kulturerna tillika med kända förhållanden angående hyggenas »mognad» och den av HESSELMAN (a. st.) påvisade närvaron av nitrifikanter i den ej nitrifierande humusen i det slutna beståndet i Björkvik tyder på, att nitrifikanterna i råhumusen ha att kämpa med mer eller mindre starka hämningar, vilka först försvinna, sedan en av vissa omsättningar av obekant natur bestående mognadsprocess försiggått i jorden. Jag uttänkte där-

¹ I de ungefär neutrala kulturerna med kalciumkarbonat brukade nitratbildningen följa nitritbildningen tätt i spåren. Nitrifikationens fortgång följdes med en grovt kvantitativ kolorimetrisk metod med hjälp av med platinaöglå uttagna prov av kulturvätskan, med användning dels av TROMSDORFFS zinkjodidstärkelse-, dels av LUNGES difenylaminsvavelsyrereagens.

² Dessa senare voro enligt mikroskopisk undersökning typiska nitrosomonader, uppträdande som frittlevande kocker eller stundom som lösa, ej inkapslade kolonier.

för följande metod, som under sådana förhållanden syntes mig ägnad att fortast möjligt få fart på de närvarande nitrifikanterna. På en porös platta av gips med 15 % marmorpulver och 2,5 % $(\text{H}_4\text{N})\text{MgPO}_4$ sållades humus till ett omkring 1 mm tjockt lager. Plattan placerades i en rymlig petriskål och denna fylldes f. ö. med en lösning, innehållande de vanliga salterna, upp till ungefär gipsplattans halva höjd. Lösningen ombyttes tid efter annan. Meningen med denna anordning var, att kulturen å gipsplattan skulle så att säga efter hand tvättas ren från de för nitrifikanterna skadliga ämnen, som finnas i humusen eller bildas vid omsättningarna i denna. Att jag täckte hela plattan med jord i stället för att beså den med enstaka korn berodde främst på att det var önskligt att begagna ett rikligt material, då nitrifikanterna troligen äro tunnsådda i de motspänstigare jordarna. Jag kallar denna art av kulturer för halv-spontankulturer.

Metoden tycks vara värd beaktande. I hyggeshumusen från Björkvik inträdde inom omkring en månad en stark nitrifikation, som snabbt blev så livlig, att hela ammoniakförrådet uttömdes. Försöket lyckades väl även med den i vätskekultur så motspänstiga humusen från Tönnersjöheden (det bör kanske anmärkas, att såddmaterialet i detta fall mognat förut två veckor i spontankultur). Inom den tid, som stod mig till buds, lyckades det mig däremot ej heller med denna metod att få liv i nitrifikanterna i humus under bestånd i Björkvik. När försöket efter $2\frac{1}{2}$ månad måste avbrytas, visade vätskan endast en ytterst svag nitratreaktion.

Kulturer å kiselgel. Å klara kiselgelplattor, ympade i streck med bottensatsen från vätskekulturer av Björkviksorganismen, iakttogos efter någon vecka under mikroskop vid 200 gångers förstoring mer eller mindre talrikt starkt ljusbrytande kroppar, som först mest av allt liknade cyster av protozoer (jfr fig. 5). De vuxo emellertid och utvecklade sig till sammansatta bildningar (fig. 1—4). I preparat visade de sig vid stark förstoring mycket påminna om de av WINOGRADSKY (1892) iakttagna och beskrivna zoogleaformerna av nitrosomonader. Den nära liggande förmodan, att de utgjorde den sökta nitritorganismen, kunde bekräftas utan renkulturer genom den eleganta metod, som användningen av det olösliga dubbelsaltet $(\text{H}_4\text{N})\text{MgPO}_4$ som ett tunt överdrag å kiselgelplattor utgör. Dylika plattor ympades dels genom sådd av korn ur en spontankultur, dels genom »pulverisering» (medels en liten steril glasrefraichissör) över plattan av den krossade bottensatsen ur en vätskekultur, utörd i sterilt vatten, dels genom »plantering» av zooglear med nål från en annan kiselgelplatta. Beläggningen av dubbelsalt å plattan upplöses genom de ammoniakförbrukande nitritbildarnas verksamhet, och denna upplösning sker helt lokalt, så att de uppkommande klara fläckarna i belägg-

ningen i gynnsamma fall tydligt visa, var processen är lokaliserad. Samtidigt kan man tack vare zoogleernas storlek och starka ljusbrytning vid granskning av plattan under mikroskopet med en svag lins fastställa dessas fördelning. Det visade sig, att zoogleernas förekomst och dubbelsaltets upplösning undantagglöst hörde samman. Kring de utsädda kornen utvecklade sig antingen såväl zoogleer som klara zoner eller ock ingendera delen. Då man skulle kunna tänka sig, att zoogleerna kunde förbises, där ingen upplösning inträtt i saltbeläggningen, gjordes för kontroll preparat av gelet under och omkring samtliga såddkorn å en platta. Zoogleerna kunde återfinnas i samtliga preparat från upplösningssfläckar, men icke i några andra. När plattorna befunno sig i lämpligt utvecklingsstadium kunde man även, särskilt å de planterade och sprutade plattorna, direkt under mikroskopet iaktta hur de bildade upplösningssfläckarnas begränsningslinjer noggrant motsvarade zoogleernas eller zoogleahoparnas mycket varierande konturer.

De övriga i kulturerna iakttagbara organismerna visade ingen dylik relation till dubbelsaltets upplösning. Bland dessa övriga organismer tilldrog sig särskilt en vit aktinomycet uppmärksamheten. Den förekom visserligen ungefär lika ofta även på korn utan upplösningsszon, men för säkerhets skull gjordes ett renodlingsförsök genom ympning i streck å en kiselgelplatta med dubbelsalt. Försöket gav endast en ytterligare bekräftelse på att zoogleerna äro de verkliga nitritbildarna. Plattan i fråga överraskade med att ge stark nitritreaktion och visa två upplösningssfläckar efter 20 dagar. Mitt i dessa återfunnos emellertid de vanliga zoogleerna. I övrigt visade sig även i fortsättningen ingen upplösning, trots det aktinomyceten växte rätt frodigt i strecken.

Mot slutet av vistelsen i Brie lyckades jag även få kulturerna med humus från Tönnersjöheden så långt, att nitritbildaren kom till synes. Å en kiselgelplatta med dubbelsalt, sådd med korn ur en halvspontankultur, utvecklade sig upplösningsszoner och i dessa återfunnos zoogleer, till synes alldeles identiska med dem från Björkvik. Alla här meddelade figurer¹ hänföra sig emellertid till Björkviksorganismen.

Kulturer å porösa plattor. I äldre kulturer kunde man mycket bra se organismen makroskopiskt. Zoogleahoparna, som i början äro hyalina eller åtminstone ytterst svagt färgade, bli med tiden mer eller mindre gulaktiga (men knappast bruna). De största jag sett hade ungefär ett knäppnålshuvuds storlek.

Utom gipsplattor begagnades till dessa kulurer filterplattor av glaspulver från Schott & Gen. i Jena, detta särskilt för ett försök med od-

¹ Ur teknisk synpunkt kan det ha sitt intresse att anmärka att samtliga fotografier äro tagna utan andra hjälpmedel än mikroskopet (utrustat med Leitz periplanokular 10 x) och en elektrisk ficklampa (med spiraltråd), utan kamera, kassett, extra belysningslinser m. m.

ling av organismen vid olika p_H utan användning av de brukliga rätt stora koncentrationerna av olika buffertlösningar. Den använda p_H -skalan var ungefär 5, 6, 7 och 8; den bästa trevnaden tycktes den neutrala lösningen ge och ungefär lika god den alkaliska. Försöket utfördes emellertid i alldeles för liten skala för att tillåta några slutsatser.

Organismens morfologi. Jag har icke med säkerhet sett något annat stadium än de nämnda zoogleerna, och efter allt att döma är detta i själva verket organismens normala existensform. Likväl torde det vara visst, att ett stadium av fritt levande — måhända t. o. m. rörliga — celler förekommer. Å en av plattorna iakttoogs nämligen en föryngring i form av rader eller cirkelbågar ungefär koncentriskt till äldre zooglear, vilket ej gärna kan förklaras på annat sätt. Jag har även en enstaka gång iakttagit en zooglea, som i ena kanten tycktes befinna sig i upplösning.

Zooglearnas utseende framgår av bilderna. De enkla formernas tvärmått är oftast något eller några tiotal μ . Även mindre — d. v. s. som ej uppnå 10 μ — ha iakttagits, men inga så stora som 0,1 mm. Vanligtvis utveckla sig de enkla formerna under sin tillväxt till samman-satta (se figurerna) eller till massor av större och mindre zooglear. Koloniernas utseende kan vara mycket skiftande; än äro de bildade av relativt få och stora, än av talrika små zooglear. Kolonierna bli ofta så stora att de kunna ses med blotta ögat, både å kiselgelpplattor och särskilt å porösa plattor, där kulturerna kunna hållas länge och effektivt matas efterhand genom ombyte av vätskan. Kolonierna kunna vara så fasta och sammanhängande att de kunna plockas bort hela från underlaget med en preparernål. Ibland vika de sig härvid omkring nålen, men ibland äro de så stadiga, att de alldeles behålla sin form. I andra fall sönderfaller kolonien, när man berör den med nålen, i flere eller färre korn. Dessa olikheter bero måhända helt enkelt på olika utbildning av den gelékapsel, som alltid synes omge zoogleerna (se bilderna).

I zoogleerna kan man oftast redan utan färgning — i större zooglear ofta, ehuru vanligtvis otydligt, redan vid svag förstoring, direkt å kiselgelpplattorna — iaktta en struktur. Efter färgning med jod eller sura färgämnen sådana som eosin eller erytrosin, som icke överfärga och ej eller blott helt svagt färga kapseln, framträder strukturen tydligare (fig. 6—10). Åtminstone i äldre zooglear kan man i allmänhet se en dubbel struktur, dels en mycket tydlig, finare, dels en ganska diffus, grövre. Den senare kan man få söka förgäves, den förra är städse tydlig. Vid gynnsam färgning kan man konstatera att zoogleerna äro uppbyggda av kocker, omkring 0,5 μ i tvärmått. Den grövre strukturen beror på att dessa i sin tur (ofta eller alltid?) äro förenade till paket. Även de enskilda kockerna synas vara försedda med en kapsel.

Sammanfattning och diskussion. Den studerade nitritbildaren ur råhumus påminner bland förut kända organismer närmast om zoogleastadierna av vissa utomeuropeiska, av WINOGRADSKY beskrivna nitrosomonader. Däremot synes den bestämt skild från de förut kända europeiska nitritbildarna i åkerjord, som äro större och enligt prof. WINOGRADSKYS omdöme aldrig bilda så jättelika kompakta zoogleer (jfr min fig. 5 med fig. 23 WINOGRADSKY 1925, där förstoringen är 300 gånger). Även koloniernas färg kan anföras som en avvikande karaktär. I mina kulturer, varav de äldsta nu levande äro åtta månader gamla, har jag aldrig iakttagit någon mörkare färg hos kolonierna än smutsgult. De verkliga zoogleerna av åkerjordsorganismen bli brunsvarta (WINOGRADSKY 1892, sid. 107).

Det, som det tycks, efter WINOGRADSKYS arbeten för snart 40 år sedan i litteraturen nästan bortglömda zoogleastadiet av nitrosomonaderna får genom upptäckten av den föreliggande organismen nytt intresse. Som WINOGRADSKY visat, slå även de vanliga nitritbakterierna (ur åkerjord) under vissa, ej närmare utredda betingelser över i ett dylikt stadium, som rätt envist kan hålla sig. Dylika kulturer arbeta påfallande långsamt i jämförelse med dem, som innehålla fritt levande kocker (jfr WINOGRADSKY 1892, sid. 103). Hos den studerade skogsformen synes emellertid av hittills gjorda erfarenheter att döma zoogleastadiet vara den normala existensformen. Möjligen kan detta uppfattas som en tillpassning till de relativt magra och ogynnsamma betingelser, under vilka organismen måste leva och arbeta i råhumus. Vissa iakttagelser (jfr WINOGRADSKY, nyss anført ställe) tyda dock på att zoogleaformen åtminstone ofta är den i naturen normala även för de vanliga nitrosomonaderna. Hela den »autoktona» bakteriefloran i marken (WINOGRADSKY 1925) är f. ö. av en liknande typ. — De morfologiska fakta förklara å andra sidan att skogsformen är så långsamt arbetande icke blott i råkulturerna, utan även i de följande generationerna.

Om allmänt nitritbildarna i skogsmarken eller åtminstone i råhumus och därur bildad hyggeshumus¹ principiellt överensstämmer med den ovan beskrivna förklaras otvunget en hel del av GAARDER och HAGEMES iakttagelser, bl. a. att det visade sig nödvändigt att använda så stora mängder vätska för att ympa kulturerna, om ympningen säkert skulle lyckas. Om frilevande celler praktiskt taget saknas, så måste det alltid bli en slump om man i ett litet uttaget vätskeprov får med någon av de på botten liggande zoogleerna. Det är även tydligt, att de måste erbjuda stora svårigheter att renodla dylika organismer (jfr WINOGRADSKY 1892, sid. 109).

¹ Det enda man förut vet om utseendet hos andra nitrifikanter än den normala åkerjordens återfinnes i en not hos WINOGRADSKY 1892 (sid. 105) och gäller en nitritbildare, odlad ur två prov av torvjord. Denna form visade »det mest utpräglade och typiska zoogleiska växtsätt», säger WINOGRADSKY, men syntes f. ö. identisk med den vanliga åkerjordsformen.

Litteratur.

- AALTONEN, V. T., 1926, Über die Umsetzungen der Stickstoffverbindungen im Waldboden (Summary: The Decomposition of Nitrogenous Compounds in Woodland Soils). — Comm. ex inst. quæst. forest. Finlandiæ ed. (Helsingfors) 10.
- GAARDER, T. & HAGEM, O., 1921 a, Salpetersyre dannelsen i udyrket jord. I. Orienterende analyse (Zusammenfassung: Salpetersäureproduktion in unbebautem Erdboden). — Medd. fra Vestlandets forstlige forsøksstation (Bergen) 4.
- , 1921 b, Versuche über Nitrifikation und Wasserstoffionenkonzentration. — Bergens Museums aarbok 1919—20 (1921), naturv. række nr. 6.
- , 1923, Nitrifikation i sauren Lösungen. — Ibid. 1922—23, naturv. række nr. 1.
- HESSELMAN, H., 1917, Studier över salpeterbildningen i naturliga jordmåner och dess betydelse i växtologiskt avseende (Resümee: Studien über die Nitratbildung in natürlichen Böden und ihre Bedeutung in pflanzenökologischer Hinsicht). — Dessa Medd. (ces Bulletins) 13—14, p. 297, p. XXXIII.
- , 1926, Studier över barrskogens humustäcke, dess egenskaper och beroende av skogsvården (Resümee: Studien über die Humusdecke des Nadelwaldes, ihre Eigenschaften und deren Abhängigkeit vom Waldbau). — Ibid. 22, 1925 (1926), p. 169, p. 508.
- WEIS, FR., 1908, Om Salpetersyrens Forekomst og Dannelse i Muld og Mor. — Det forstlige Forsøgsvæsen i Danmark (København) 2, p. 257.
- WINOGRADSKY, S., 1892, Contributions à la morphologie des organismes de la nitrification — Archives des sciences biologiques publ. par l'Inst. imp. de médecine expér. à St. Pétersbourg 1, p. 87 + planches I—IV.
- , 1925, Etudes sur la microbiologie du sol. I. Sur la méthode. — Ann. de l'Inst. Pasteur 39, p. 299.
- , 1926, Idem II. Sur les microbes fixateurs d'azote. — Ibid. 40, p. 455.

RÉSUMÉ.

Un ferment nitreux forestier.

(Avec 3 planches hors texte.)

Dans la vaste littérature sur la nitrification parue depuis les recherches classiques de WINOGRADSKY, on trouve fort peu de données sur la morphologie des agents. Il n'y en a pas du tout, il semble, pour tout ce qui n'est pas sol arable normal, outre quelques brefs renseignements chez WINOGRADSKY dans une note au bas de la page (1892, p. 105), sur un ferment nitreux contenu dans deux échantillons de terre de tourbe.

On ne connaît donc rien, jusqu'à présent, sur la nature des organismes nitrificateurs des sols forestiers. Les recherches de la dernière vingtaine d'années — poursuivies surtout dans les pays nordiques¹ — ont montré que ces nitrificateurs forestiers doivent être très répandus. Certains faits indiquent qu'ils sont encore plus communs dans les sols forestiers que n'y est la nitrification manifeste, phénomène rare, après tout, sous futaie, dans l'humus brut plus ou moins prononcé des forêts nordiques. On peut souvent faire nitrifier un tel humus brut en apparence inactif en faisant une coupe à blanc

¹ Les constatations de BOUSSINGAULT d'une nitrification dans les sols forestiers ayant été controversées et restées sans suite une vingtaine d'années, la littérature moderne sur le sujet commence seulement par le travail du Danois M. FR. WEIS, 1908. La question a été poursuivie plus tard notamment par le Suédois M. H. HESSELMAN (1917, 1926) et par les Norvégiens MM. T. GAARDER & O. HAGEM (1921 a et b, 1923). La contribution la plus récente a pour auteur un Finlandais, M. V. T. AALTONEN (1926).

ou une clairière dans la futaie. Dans la plupart des cas, c'est difficile de s'imaginer qu'un ensemencement de loin ait eu lieu. De plus, on a réussi à provoquer dans quelques expériences le même effet au laboratoire, en ajoutant du CaCO_3 à un échantillon d'humus brut pris sous futaie (cf HESSELMAN 1926 p. 347, 529—530).

Durant un séjour¹ à l'Institut Pasteur de microbiologie agricole à Brie-Comte-Robert, l'auteur a profité de l'occasion unique d'entreprendre avec M. WINOGRADSKY le travail d'identifier les nitrificateurs forestiers. L'essai a réussi en ce que l'on est arrivé à tirer un organisme spécifique de deux formes d'humus forestier suédois et de l'identifier comme un agent nitreux. On n'a pas eu le même succès, jusqu'à présent, avec l'agent complémentaire, nitrique, aussi contenu dans les échantillons. C'est que son identification certaine exige des cultures pures. Dans la suite, il ne sera ici question que de l'organisme nitreux.

Le travail a porté principalement sur un humus nitrifiant d'une coupe à blanc dans une forêt mixte de conifères à Björkvik, province de Södermanland, Suède centrale.² L'organisme décrit dans la suite et représenté dans les figures³ est celui qui a été cultivé de cette terre. Cependant un organisme en apparence identique a été tiré de l'autre humus nitrifiant examiné, provenant d'une coupe à blanc dans une forêt de hêtres — à humus brut — à Tönnersjöheden, province de Halland, au sud-ouest de la Suède. L'identification comme un agent nitreux a été réalisée indépendamment pour lui aussi.

L'organisme n'a pas été obtenu en culture pure. Son isolation présente des difficultés particulières, comme on verra. Son identification n'en est pas moins sûre, grâce à la méthode précieuse qu'est l'emploi de plaques silicogel à enduit du sel double $(\text{H}_4\text{N})\text{MgPO}_4$.

On a varié les expériences décisives de différente façon. Une image très instructive a été obtenue en inoculant par pulvérisation avec une petite quantité de vase d'une culture liquide, écrasée et suspendue dans de l'eau stérile. Au bout de quelques semaines, des taches transparentes paraissent dans l'enduit et on peut constater sous le microscope ou avec la loupe, voire même avec l'œil nu, comme ces taches ne se forment qu'autour de végétations caractéristiques, reproduisant leurs contours très variés. Ces végétations sont formées de zoogléas très compactes, simples ou le plus souvent composées. On peut aussi, à l'aide des plaques silicogel à enduit du sel double, tirer l'organisme directement de l'humus en l'identifiant en même temps. Autour des grains semés il se forme ou bien des zones claires et des zoogléas; ou bien ni les unes ni les autres.

Les zoogléas sont faciles à voir sur silicogel avec un faible système à sec, grâce à leur fort indice de réfraction (cf. fig. 1—5). Seulement, elles rappellent fortement des kystes de protozoaires aussi longtemps qu'elles sont

¹ Je tiens à remercier à cette occasion la Fondation Rockefeller (International Education Board) et le Fonds pour recherches scientifiques forestières à Stockholm dont l'aide financière m'a rendu ce séjour possible.

² C'est précisément la «terre d'infection» employée dans les recherches récentes de M. HESSELMAN (1926, p. 515). L'humus sous futaie est un humus brut, mais d'un type favorable qui change sur les coupes à blanc en un humus assez doux.

³ Du point de vue technique il n'est peut-être pas sans intérêt de remarquer que tous les photogrammes sont faits sans autres moyens que le microscope et une lampe de poche électrique (à filament en spirale).

petites et simples (cf. fig. 5). Quand elles se développent en zooglées composées elles deviennent très caractéristiques et faciles à reconnaître (cf. fig. 1—2). Dans les zooglées plus grandes, on voit souvent déjà à un grossissement de 200 diamètres une structure, une fine granulation, invisible dans les petites à ce grossissement sur le vivant.

Les dimensions des zooglées simples comptent le plus souvent par dizaines de microns. Il y a aussi de plus petites. On n'en a pas vu qui atteignent 1 dixième de mm. Les zooglées composées ou agglomérations de zooglées qui se forment régulièrement au cours du développement atteignent facilement une grandeur suffisante pour être vues à l'oeil nu, sur plaques silicogel ou sur plâtre. Avec l'âge, elles deviennent jaunâtres mais guère brunes. Ces colonies de zooglées peuvent être tellement consistantes que non seulement on peut les enlever en entier du substrat avec une aiguille, mais que l'on a, en les manipulant sous le microscope, l'impression d'un corps rigide. Dans d'autres cas, la colonie paraît plus gélatineuse, se pliant plus ou moins sur l'aiguille. Tantôt enfin, les éléments des colonies — c. à. d. les zooglées — tiennent si peu ensemble que l'on a l'impression de toucher avec l'aiguille un minuscule tas de gravier. Ces différences sont peut-être dues simplement à un développement ou un degré de gonflement différent de la glaire (capsule) entourant chaque zooglée.

Dans les préparations (cf. fig. 6—10) convenablement colorées avec de l'iode ou un colorant acide ne colorant pas la glaire on peut étudier la structure interne des zooglées. Il y a au moins très souvent une double structure, une granulation plus fine, bien dessinée, due à des corps cocciformes d'environ 0,5 en diamètre, et un quadrillage plus grossier et bien plus diffus indiquant que les cocci sont réunis en paquets. Desfois — surtout, il semble, dans les zooglées moins âgées — on ne voit que la première structure. Les zooglées sont entourées d'une capsule ordinairement très bien dessinée. De même une capsule, bien moins forte, semble entourer chaque petit coccus dans l'intérieur des zooglées.

Cet état zoogléique est d'après toutes les observations faites jusqu'à présent la forme normale d'existence pour l'organisme, en un milieu liquide aussi bien que dans la terre et dans des cultures sur milieu solide. Pourtant il ne peut pas être l'unique. On a vu par places sur une des plaques des masses de nouvelles zooglées formant des alignées ou fragments d'arc, rangés à une petite distance autour d'un centre occupé par de vieilles zooglées. On a aussi exceptionnellement vu une zooglée présentant à un de ses bords l'image d'une dissolution. Un stade de cellules libres doit donc exister, mais il paraît être bien rare et passager. Voilà ce qui rend difficile l'isolation de l'organisme (cf. WINOGRADSKY 1892, p. 109).

L'organisme étudié présente donc les caractères d'une *Nitrosomonas*, persistant, il semble, presque exclusivement sur le stade zoogléique. Il se rapproche surtout de certaines formes exotiques décrites par M. WINOGRADSKY (1891), mais semble nettement différent des nitrosomonades européennes des sols arables, étudiées jusqu'à présent, non seulement par la grandeur plus faible des cocci mais aussi par les fortes dimensions qu'atteignent les zooglées simples (cf. ma figure 5 avec la fig. 23 chez WINOGRADSKY 1925; dans celle-ci, le grossissement est de 300 diamètres). De plus, on n'a jamais vu les colonies virer au brun, voire même à »un brun-noir très-ca-

ractéristique (WINOGRADSKY 1892, p. 107) comme font les vraies zooglées de l'organisme agricole. Dans des cultures âgées de huit mois, la couleur est encore d'un jaune sale. La forte tendance de l'organisme à persister sur le stade zoogléique pourrait être une adaption aux conditions relativement défavorables que trouvent sans doute ces organismes dans l'humus brut. Rappelons que la nitrosomonade cultivée d'une terre de tourbe dont WINOGRADSKY fait brièvement mention (1891, p. 105) se distinguait précisément par sa tendance extraordinairement forte à former des zooglées.

Les données morphologiques obtenues expliquent la lenteur avec laquelle l'organisme a toujours travaillé en culture. On sait qu'aussi les cultures des nitrosomonades ordinaires travaillent lentement dès que l'organisme a abandonné la forme de coccus ou de monades libres (cf. WINOGRADSKY l. c. 103).

En conséquence de ladite lenteur d'action et de croissance de l'organisme, les données sur ses propriétés en culture sont encore fragmentaires. On peut citer cependant les expériences suivantes. Dans le milieu liquide classique, avec du carbonate de magnésie, aucune nitrification notable a été obtenue (ce qui cadre avec les expériences de MM. GAARDER & HAGEM). Dans le même milieu avec CaCO_3 au lieu de la magnésie, l'action a été assez bonne si une fois elle s'est déclenchée. Ce n'est cependant qu'avec l'humus de Björkvik que les cultures liquides donnèrent un résultat marqué. Dans les cultures liquides inoculées avec l'humus de Tönnersjöheden, il ne résultait qu'une nitrification douteuse durant les 2 mois et demi que durait l'expérience. Pour activer les organismes nitrificateurs dont le développement semble entravé dans les cultures-mères liquides contenant beaucoup d'humus, comme dans l'humus brut non mûri, la méthode suivante s'est montrée avantageuse. On tamise la terre sur une plaque de plâtre contenant du CaCO_3 et du sel double $(\text{H}_4\text{N})\text{MgPO}_4$ (p. ex. respectivement 15 et 2,5 %) jusqu'à avoir une couche d'environ 1 mm d'épaisseur, et on immerge à moitié la plaque dans une solution des sels ordinaires. On renouvelle le liquide de temps en temps. Le but de l'arrangement est de tenir la concentration de substances nuisibles présentes ou formées dans la terre aussi bas que possible, en permettant en même temps d'employer un riche matériel d'ensemencement. On pourrait nommer ces cultures demi-spontanées. C'est cette méthode qui a permis de tirer l'organisme de l'humus de Tönnersjöheden qui se montrait réfractaire dans les cultures liquides. La terre sur la plaque devient avec le temps très riche en zooglées et fournit un bon matériel d'ensemencement pour d'autres cultures. Une autre méthode à plaques poreuses à moitié immergées a été essayée pour cultiver l'organisme à des différentes valeurs de p_H en évitant les solutions-tampon ordinaires relativement concentrées. On a ensemencé dans ce cas avec le dépôt d'une riche culture liquide et on a employé, au lieu de plaques en plâtre, des plaques-filtres en poudre de verre de Schott & Gen. à Iéna. Ces plaques fournissent un support neutre au possible et ont semblé bien se prêter au but. D'après les expériences très fragmentaires faites jusqu'à présent, ce serait une réaction à peu près neutre (faiblement alcaline) qui conviendrait le mieux à l'organisme.

Figurförklaring

till efterföljande planscher, tillhörande uppsatsen »en nitritbakterie ur svensk skogsmark».

Samtliga figurer hänföra sig till den ur humus från Björkvik odlade nitritorganismen. Förstoringen är för fig. 1—5 200 gånger, för fig. 6—10 1,000 gånger.

Fig 1—5 visa levande zoogloor, fotograferade direkt från kiselgelplattor.

Fig 1—2: partier av den rikliga vegetationen å ett streck å en klar, ungefär neutral kiselgelplatta, ympad från en första generationens vätskekultur, fig. 1 en månad (33 dagar), fig. 2 två månader (63 dagar) efter ympningen.

Fig. 3—4: parti av ett annat streck å samma platta, ympad från en andra generationens vätskekultur. Besåningen var här sparsammare, zoogloerna voro betydligt tunnare, men blevo i stället större. De båda figurerna visa exakt samma ställe å plattan med två stora zoogloor eller kolonier av zoogloor, fig. 3 en månad (33 dagar), fig. 4 två månader (62 dagar) efter ympningen.

Fig. 5: parti av den klara zonen kring ett såddkorn å en 6 veckor gammal kiselgelplatta med överdrag av det olösliga dubbelsaltet $(\text{H}_4\text{N})\text{MgPO}_4$. Riklig föryngring av zoogloor; typisk bild av dylika i ungt stadium. Såddmaterialet härstammade från en nära två månader gammal spontankultur.

Fig. 6 visar en detalj av en utbredd, riklig vegetation av zoogloor å en månadsgammal kiselgelplatta med $(\text{H}_4\text{N})\text{MgPO}_4$, ympad från en andra generationens vätskekultur. Fotograferat direkt från plattan efter svag jodfärgning.

Fig. 7—10 äro fotografier efter färgade preparat av bottenutsatsen i en andra generationens vätskekultur.

Explication des planches

(se référant au mémoire: »un ferment nitreux forestier»).

Toutes les figures se rapportent à l'organisme nitreux cultivé de l'humus de Björkvik. Le grossissement est de 200 diamètres pour les fig. 1—5, de 1,000 diamètres pour les fig. 6—10.

Fig. 1—5 représentent des zoogloes vivantes photographiées directement des plaques silicogel.

Fig. 1—2: Parties d'une strie sur plaque sensiblement neutre, inoculée d'une culture mère liquide, fig. 1 un mois (33 jours), fig. 2 deux mois (63 jours) après l'inoculation.

Fig. 3—4: Partie d'une strie sur la même plaque, inoculée d'une culture liquide de la deuxième génération, moins riche en semence, colonies plus éparses mais plus grandes. Fig. 3 un mois (33 jours), fig. 4 deux mois (62 jours) après l'inoculation.

Fig. 5: Partie de la zone de dissolution autour d'un des grains d'humus semés sur une plaque à enduit du sel double $(\text{H}_4\text{N})\text{MgPO}_4$. Formation abondante de nouvelles zoogloes isolées rappelant des kystes d'amibes; aspect typique des zoogloes jeunes. Le matériel d'ensemencement avait mûri près de deux mois en culture spontanée. Age de la plaque 6 semaines.

Fig. 6 représente un détail d'une végétation abondante et étendue de zoogloes sur une plaque silicogel à enduit du sel double $(\text{H}_4\text{N})\text{MgPO}_4$, âgée d'un mois, inoculée d'une culture liquide de la deuxième génération. Photographié directement de la plaque après coloration légère d'iode.

Fig. 7—10 sont des photogrammes de préparations colorées de la vase au fond d'une culture liquide de la deuxième génération.

